Über das „in vitro"-Verhalten entero – pathogener Coli-Bakterien, vor allem des Serotyps O 78, gegenüber Desinfektionsmitteln

---

von

Jürgen Kuzmany

München 1964

1964

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548306_0063

Aus dem Max - vov - Pettenkofer - Institut für
Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität München; Vorstand: Prof. Dr. Dr. H. EYER

Über das "in vitro"- Verhalten entero - pathogener Coli-Bakterien, vor allem des Serotyps O 78, gegenüber Desinfektionsmitteln

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Jürgen K u z m a n y
aus Czernowitz

München 1964

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. G. Linzenmeier
Mitberichterstatter: Professor Dr. Dr. H. Eyer
Dekan: Professor Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Dezember 1964

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung mit Literaturübersicht	1
2. Aufgabe der vorliegenden Arbeit	3
3. Eigene Untersuchungen	4
4. Methodik der Resistenzprüfung	7
a) gegen Desinfektionsmittel	
b) gegen Chemotherapeutika	9
5. Ergebnisse der Tests	10
a) mit Chemotherapeutika	
b) mit Desinfektionsmittel:	
Äthyl- und Propylalkohol	12
Formalin	13
Lysoformin	17
Sagrotan	20
Alkalysol	23
Sublimat	26
Quartamon	29
Chloramin 80	32
Tego 103 S	35
Incidin	38
6. Auswertung der Untersuchungen über die Keimresistenz gegen Desinfektionsmittel	41
7. Besprechung	44
8. Zusammenfassung	47
9. Literaturverzeichnis	49

Einleitung mit Literaturübersicht

Es war das Verdienst von ADAM (1), daß er als erster vor 40 Jahren die Entstehung der Colienteritis beim Säugling auf pathogene Colistämme zurückführte.
Jedoch erst in neuerer Zeit konnten auf dem Gebiet der Coliforschung durch die modernen biochemischen und serologischen Methoden bedeutende Fortschritte erzielt werden.

Die immer größer werdende Zahl der entdeckten Colistämme, teils tierischer, teils menschlicher Herkunft, wurde schon bald Anlaß für die verschiedensten vergleichenden Untersuchungen. Die einzelnen Formen unterscheiden sich nicht nur in ihren biochemischen und serologischen Eigenschaften, sondern auch in ihrem Verhalten gegenüber den Antibiotica und Sulfonamiden.

Die relativ hohe Resistenz der gramnegativen Dyspepsiecolibakterien, wie diese Erreger auch genannt werden, gegen Hitze und Austrocknung, führte verständlicherweise auf die Suche nach wirksamen Desinfektionsmitteln.

ADAM, der sich schon damals mit diesem Problem beschäftigte, empfahl als wirksames Desinfektionsmittel das Lysolin, eine Mischung halogenierter und aralkylierter Phenole (1).

Das häufige Auftreten von Neuinfektionen mit Dyspepsiecoli, Erkrankungen, die man ursprünglich für Dyspepsie-

rezidive hielt, heute jedoch als Form des Hospitalismus betrachtet werden müssen, veranlaßten SCHMIDT und OCKLITZ zur Prüfung mehrer Desinfektionsmittel (25). Testkeime in diesen Versuchen waren vier Vertreter der Escherichia-Gruppe aus der Escherichia-Zentrale Kopenhagen mit folgenden serologischen Formeln: O 111 : B 4 (Stoke W), O 55 : B 5 (1064), O 26 : B 6 (Hall), O 44.

Zum Vergleich testeten sie einen Staphylococcus aureus. Die geprüften Desinfektionsmittel waren einige Vertreter der quartären Ammoniumbasen, halogenierte Phenolderivate und Alkohol.

Ebenfalls im Suspensionsversuch testete FLEISCHHAUER (10) drei Stämme des Serotyps O 111 und einen Stamm Staph. aureus mit folgenden heute gebräuchlichen Desinfektionsmitteln: Sublimat, Bradisol, Phenol, Zephirol, Sagrotan, Purotan, Lysolin, Valvamon Casonex grob, Kresol-Seifenlösung, Valvanol, Lysol, Formaldehyd, Phenol-Lysoform, Laudamonium, Lysoform, Casonex Tb.

Aus beiden Arbeiten kann man erkennen, daß die gegen Staphylokokken wirksamen Mittel, gegenüber den Dyspepsiecoli-Stämmen unterschiedlich wirken. Während FLEISCHHAUER (10) als einzig zuverlässiges Mittel nur das Sublimat empfahl, bevorzugten SCHMIDT und OKLITZ allerdings unter Berücksichtigung der der praktischen Anwendung, Verbindungen des Propylalkohols: C_4 oder Merpin D 40 als Grob-, Optal als Feindesinfizienz, Formalin als sicher wirkendes, seiner sehr langen Einwirkungszeit wegen nur begrenzt anwendbares Mittel.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit

Meine Aufgabe bestand darin, festzustellen, inwieweit sich verschiedene Colistämme der Serotypen O 78, O 4, 055, O 26 O 111, ein Urin isolierter Normalcoli, sowie ein rauher Stamm vom Serotyp O 78 in ihrer Resistenz gegen Desinfektionsmittel voneinander unterscheiden, und ob Relationen zwischen der Empfindlichkeit gegen Chemotherapeutica und der gegen Desinfektionsmittel bestehen. Zu diesem Zweck wurden mehrere Colistämme mit den handelsüblichen Desinfektionsmitteln geprüft, um auch festzustellen, ob die meist mit e i n e m Colistamm gewonnenen Erkenntnisse Allgemeingültigkeit haben.

Eigene Untersuchungen

Material

Getestet wurden 18 Coli-Stämme mit folgenden serologischen Formeln: 10 x O 78, 4 x O 4, 2 x O 55, 1 x O 26, 1 x O 111 (Tab.-Nr. 1).

Außerdem bezog ich in die Versuche einen Urin isolierten Normalcoli und einen rauhen Stamm vom Serotyp O 78 ein. (Der rauhe Stamm O 78 (Tab.-Nr. 4 A) entspricht dem Stamm O 78 (Tab.-Nr. 4) vor seiner Mutation.) Die Keime des Serotyps O 78 werden deswegen im folgenden besonders eingehend untersucht, da sie nicht nur als Erreger der Kälberruhr in Frage kommen (9), sondern auch beim Menschen zu finden sind (19). Untersuchungen dieses Serotyps sind bisher nicht gemacht worden.

Fünf Stämme E.coli O 78 und die Stämme E-coli O 4, O 55. O 26 und O 111 wurden in München am Max von Pettenkofer-Institut aus den Stühlen dyspepsiekranker Säuglinge isoliert. Zwei Stämme E.coli O 78 aus der veterinär-medizinischen Untersuchungsanstalt Schleißheim und drei Stämme des selben Serotyps, die Professor FEY vom veterinärbakteriologischen und parasitologischen Institut Bern zur Verfügung stellt, entstammen an Kälberruhr erkrankter Tiere.

Sämtliche Stämme wurden mittels der Objektträgermethode bei Beginn und nach Beendigung der Versuche mit OK-Seren(Behring-W. und Seren von Professor Dr. LINZENMEIER)serologisch geprüft.

Tabelle Nr. 1

Herkunft der Stämme und ihre Einteilung für die folgenden Versuche

Serotyp O 78

Stamm Nr. 1	8987 / 59	M	(= Max-von-Pettenkofer-Institut)
Nr. 2	511 / 60	M	
Nr. 3	487 / 61	M	
Nr. 4	8560 / 59	M	
Nr. 5	1178 / 60	M	
Nr. 6	K 244	F	(= Prof. Fey)
Nr. 7	K 785	F	
Nr. 8	K 1057	F	
Nr. 9	371 / 60	Sch	(= Schleißheim)
Nr. 10	381 / 60	Sch	

Serotyp O 4

Stamm Nr. 11	6446 / 61	M
Nr. 12	298 / 61	M
Nr. 13	5236 / 62	M
Nr. 14	5229 / 62	M

Serotyp O 55

Stamm Nr. 15	5235 / 62	M
Nr. 16		M

Serotyp O 26

Stamm Nr. 17	5204 / 62	M

Serotyp O 111

Stamm Nr. 18	5280 / 62	M

Urin - Coli

Stamm Nr. 19	247 Fd	M

Rauher Stamm

Stamm Nr. 4 a	8560 / 59	M

Die zur Testung verwendeten Desinfektionsmittel waren folgende im Handel erhältliche Präparate bzw. Chemikalien: Äthylalkohol, Propylalkohol, Formalin, Lysoformin. Sagrotan, Alkalysol, Sublimat, Quartamon, Chloramin, Tego 103 S, Incidin.

Methodik

Zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung der einzelnen Präparate wählte ich den Suspensionsversuch. Er wurde nach den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, herausgegeben von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie" (6), durchgeführt.

Die auf Eiernährböden im Max von Pettenkofer-Institut konservierten Dyspepsiecoli-Stämme überimpfte ich auf Schrägagarnährböden. Diese Kulturen waren das Ausgangsmaterial für die zu den Versuchen benötigten Kulturrasen.

Die Bereitung der Bakteriensuspension erfolgte nach 16-stündiger Bebrütung des beimpften Nährbodens. Der Kulturrasen wurde mit 5 ml Peptonbouillon übergossen und die Abschwemmung durch leichtes Schütteln in eine gleichmäßige Keimsuspension überführt.

Zu den in sterilen Petrischalen abgemessenen 10 ml der verschiedenen Verdünnungen des zu prüfenden Präparates pipettierte ich 0,1 ml der Keimsuspension. Mittels einer Öse erfolgte nach den jeweils angeführten Einwirkungszeiten die Überimpfung eines Tropfens des Desinfektionsmittel-Keimgemisches auf ein Röhrchen mit 5 ml Peptonbouillon.

Um die entwicklungshemmende Wirkung einzelner Prä-

parate auszuschalten, setzte ich dem Nährboden der Subkulturen das vorgeschriebene Enthemmungsmittel bei.

Die mit Bakterien beimpften Röhrchen wurden im Brutschrank bei einer Temperatur von 37°C 72 Stunden lang bebrütet. Die Ablesung der Ergebnisse erfolgte nach 24, 48 und 72 Stunden.

Bei der Wahl der Desinfektionsmittelkonzentration hielt ich mich an die gewöhnlichen Verdünnungen, wählte aber auch Konzentrationen, die bei den relativ kurzen Einwirkungszeiten differenzierbare Ergebnisse lieferten.

Die kurzen Einwirkungszeiten von 1/2, 1, 2 und 5 Minuten mußten deswegen gewählt werden, weil einzelne Präparate schon in einer Konzentration von nur 0,1 % und einer Einwirkungszeit von einer 1/2 Minute bakterizide Wirkung zeigten.

In diesen beiden zuletzt angeführten Punkten unterscheiden sich meine Versuche von den bisherigen experimentellen Arbeiten (10,25), die im wesentlichen darauf ausgerichtet waren, ein für die Praxis brauchbares Desinfektionsmittel zu finden. Meine Aufgabe jedoch war es, festzustellen, inwieweit sich die verschiedenen Colistämme in ihrer Empfindlichkeit gegen Desinfektionsmittel voneinander unter unterscheiden.

Durch fortlaufende Wachstumskontrollen prüfte ich die Keimfreiheit der verwendeten Substanzen.

Die Resistenzbestimmung gegen Chemotherapeutica wurde nach der HEMMHOF-Methode, unter Anwendung einer zahnradförmigen Testscheibe durchgeführt (20).

Ich beimpfte je 1 ml einer peptonfreien Nährbouillon, die einen 0,1% Dextrose-Zusatz enthielt, mit den verschiedenen Stämmen und setzte sie einer Bebrütung von acht Stunden bei 37°C aus.

Eine Öse dieses nur leicht getrübten Nährbodens spatelte ich auf einen ebenfalls peptonfreien, festen Nährboden aus und belegte ihn mit der zahnradförmigen Testscheibe. Die acht Enden der Scheibe waren mit 20 γ Tetracyclin, 12 γ Chloramphenicol, 20 γ Kanamycin, 800 γ Sulfonamiden, 800 γ Supronal, 50 γ Polymyxin und 10 γ Furazolidon beschickt.

Nach 18 - 20 Stunden Bebrütung wurde die Größe der Hemmhöfe abgelesen. Betrug der Durchmesser des Hemmhofs 18 - 25 mm und mehr, so galten die Keime als "empfindlich", bei 10-17 mm nur als "mäßig empfindlich" und bei 6- 9 mm als "resistent".

Ergebnisse der Tests

Wie sich aus der Tabelle Nr. 2 über die Resistenzbestimmung gegen Chemotherapeutica ergibt, sind die Stämme von E.coli O 78 bis auf zwei Ausnahmen (Nr. 5 und Nr. 7) recht empfindlich.

Ferner fällt der große Resistenzunterschied der beiden Stämme von E.coli O 55 auf.

Als Keim mit der höchsten Resistenz erwies sich der E.coli O 111, der nur auf Furazolidon und Polymyxin ansprach.

Ebenfalls erwähnenswert wäre noch der Resistenzabfall der rauhen Form O 78 (Stamm 4 A).

	078 1	078 2	078 3	078 4	078 5	078 6	078 7	078 8	078 9	078 10	04 11	04 12	04 13	04 14	055 15	055 16	026 17	0111 18	Ukcol 19	R078 4A
STREPTOMYCIN	E	E	E	E	R	E	R	E	mE	E	mE	E	mE	R	mE	E	mE	R	mE	E
TETRACYCLINE	mE	mE	R	R	R	mE	R	mE	R	R	mE	mE	R	R	R	E	R	R	mE	mE
CHLORAPHENICOL	E	E	mE	mE	R	mE	E	E	E	mE	E	E	E	R	R	E	mE	R	mE	E
KANAMYCIN	E	E	E	E	E	E	mE	E	E	E	E	E	E	E	R	E	E	R	E	E
SULFONAMIDE	E	E	E	E	R	E	R	R	E	E	E	E	E	R	R	E	E	R	E	E
SUPRONAL	E	E	E	E	R	E	R	R	E	mE	mE	E	E	R	R	E	R	R	E	E
POLYMYXIN	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
FURAZOLIDON	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	mE	E	E	E	E	E	E	E	E	E

E = empfindlich

mE = mäßig empfindlich

R = resistent

Tabelle 2 Resistenzverhalten gegen Chemotherapeutika der zur Resistenzprüfung verwendeten Coli-Stämme

Äthyl- und Propylalkohol

Die Tests mit 80 %igen Äthyl- und 70 %igen Propylalkohol brachten sehr wirksame Desinfektionsergebnisse.

Beide Alkohole, die durch Dehydrierung und Denaturierung des Zelleiweißes wirken, zeigten schon volle Desinfektionsergebnisse nach einer Einwirkungszeit von 30 Sekunden. Bei keinem der 20 Stämme konnten nach dieser kurzen Zeit und einer Bebrütungsdauer von 7 Tagen noch lebende Keime nachgewiesen werden. Alkohole als 50 %ige Lösung zeigten den gleichen Erfolg.

Leider waren diese Resultate im Sinne meiner Arbeit nicht auszuwerten. Auf die Bedeutung dieser Ergebnisse für die Praxis wird im folgenden noch einmal hingewiesen

Formalin

Wirkstofftyp: Formaldehyd

Die Desinfektionswirkung liegt in der Reaktion der sehr aktiven Aldehydgruppe mit den NH_2-Gruppen des Mikrobeneiweißes (15).

Aus umfangreichen Untersuchungen mit Coliphagen schlossen HEICKEN und SPICHER (13), daß die Reaktion des Formaldehyds, die zur Inaktivierung der Coliphagen führt, mit großer Wahrscheinlichkeit an funktionellen Gruppen im Proteinanteil der Phagen einsetzt. Sie entdeckten reversible und irreversible Reaktionen der Formaldehydverbindungen an Proteinen, die jeweils von den verschiedenen Aminosäuren des mit Formaldehyd reagierenden Phagenproteins abhängen.

Der jodometrisch bestimmte Formaldehydanteil des in meinen Versuchen verwendeten Formalins betrug 37,525 %.)+

Die entwicklungshemmende Wirkung des Formaldehyds hob ein Zusatz von 0,5 % Histidinmonochlorid zum Nährboden der Subkultur auf.

Die Formalinkonzentrationen dieses Tests waren 1 %, 2 %, 6 % und 10 %.

)+Für die jodometrische Bestimmung sei Herrn Dr. Röschenthaler besonders gedankt.

Die 1 %- und 2 %ige Lösung konnte keinen der Stämme, selbst nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten, abtöten. Dieses Ergebnis zeitigte bereits eine 24-stündige Bebrütung. Sogar den Versuch mit einer 6 %igen Formalinlösung überlebten sämtliche Stämme. Es war jedoch auffallend, daß bei 16 Stämmen jene Keime, die dem Desinfektionsmittel 5 Minuten lang ausgesetzt waren, frühestens nach 48 Stunden Wachstum erkennen liessen (Abb. 1). Die restlichen 4 Stämme, drei E.coli O 78 und ein E.coli O 55 wuchsen bei 30 Sekunden Einwirkungszeit erst nach 48 Stunden.

Erst eine 10 %ige Konzentration des Formalins tötete nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten zwei Stämme des E.coli O 78, je einen des E.coli O 55 und O 111 und den rauhen stamm des Serotyps O 78 (vgl. Abb. 2). Bemerkenswerterweise zeigte es sich auch hier, daß fünf Stämme des Serotyps O 78, je einer des Serotyps O 55 und O 111 sowie der rauhe O 78-Stamm und der normale Colistamm bei einer Einwirkungszeit von 30 Sekunden nach 48-stündiger Bebrütung wuchsen.

Wie man aus der Abbildung Nr. 1 ersieht, läßt sich also die Resistenzfähigkeit der verschiedenen Formen im Großteil der Fälle nur aus ihrem verzögertem Wachstum ersehen.

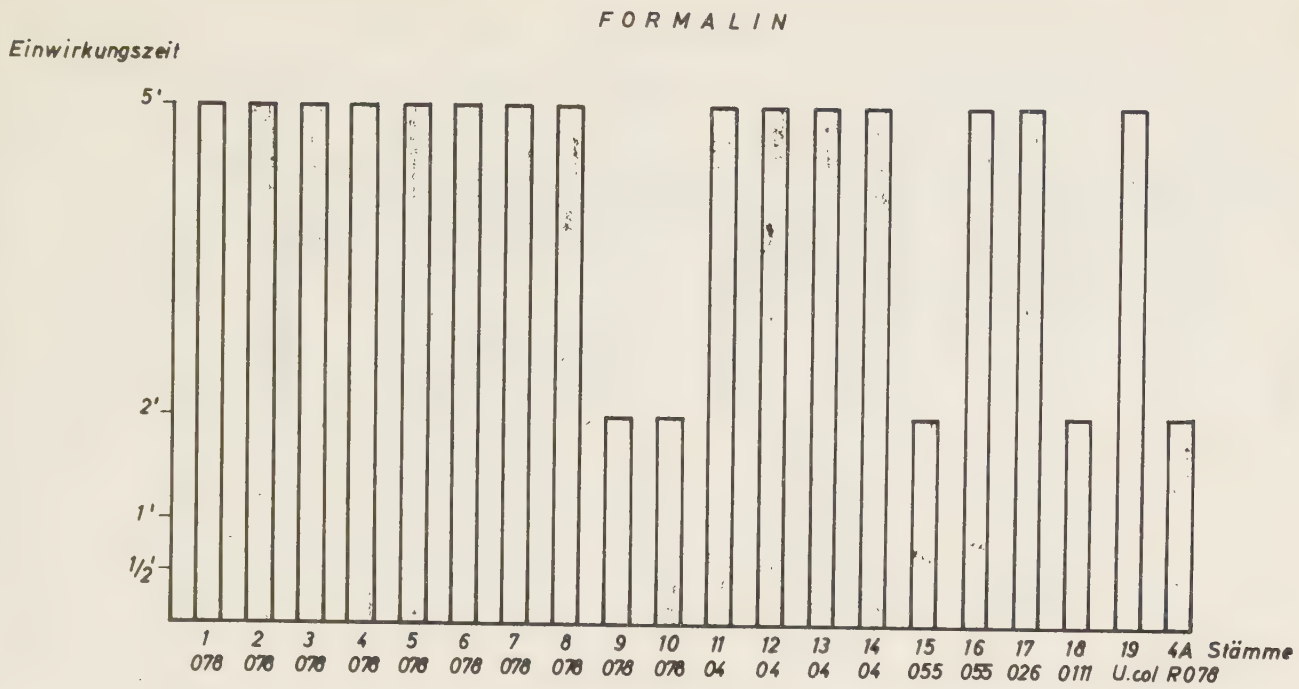


Abb. 2 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Formalin

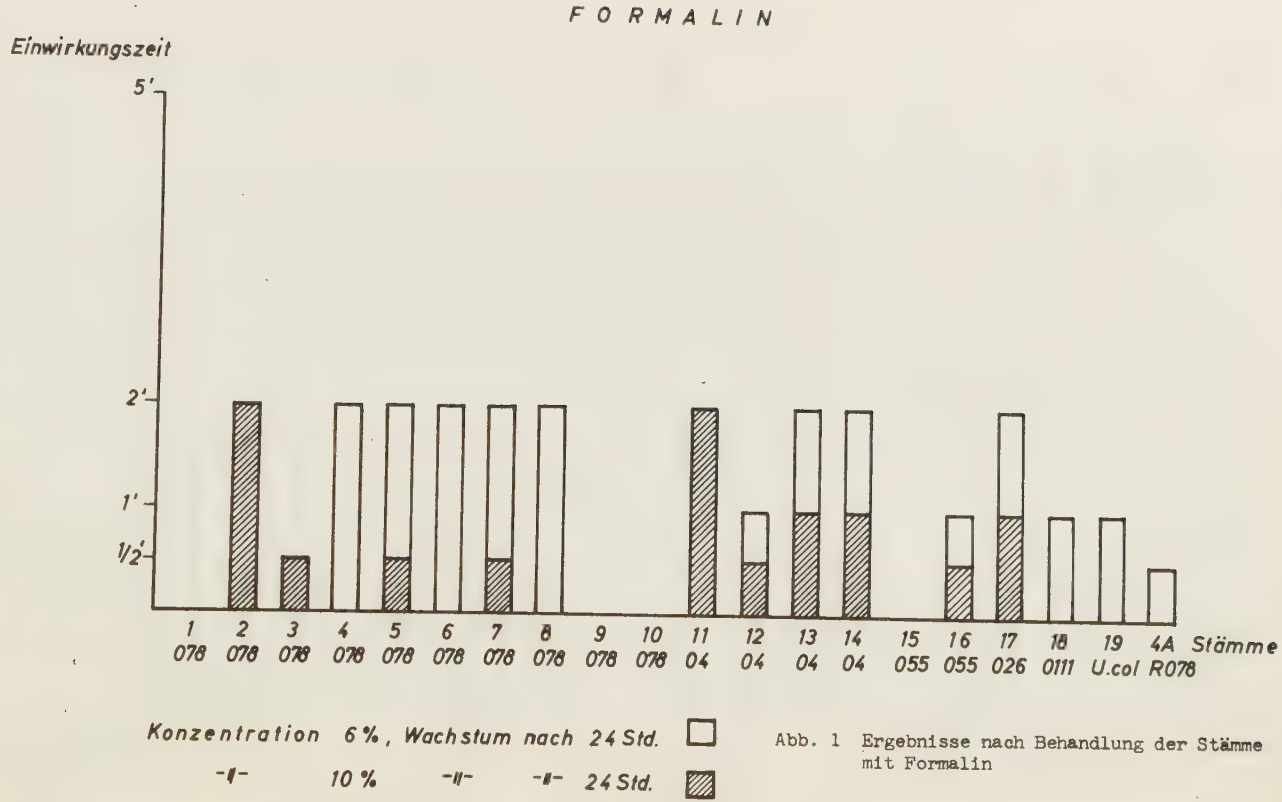


Abb. 1 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Formalin

Lysoformin

Wirkstofftyp: Formaldehyd

Der Formaldehydanteil dieses Präparates betrug nach der jodometrischen Bestimmung 13,133 %.)+

Die entwicklungshemmende Wirkung des Formaldehyds schaltete wie bereits bei den Versuchen mit Formalin, ebenfalls eine Zugabe von 0,5 % Histidinmonochlorid zum Nährboden der Subkultur aus.

Mit einer 2 %- und 6 %igen Lösung testete ich die Stämme. Sämtliche Formen, außer der rauhen Form O 78 besaßen im Versuch mit der 2 %igen Konzentration und einer Einwirkungszeit von 5 Minuten weiterhin volles Wachstum. Der rauhe Stamm überlebte nur eine Einwirkungszeit von 5 Minuten.

Deutliche Unterschiede in der Resistenz der Stämme treten erst bei den Tests mit einer Konzentration des Lysoformins von 6 % zutage (vgl. Abb. 3).

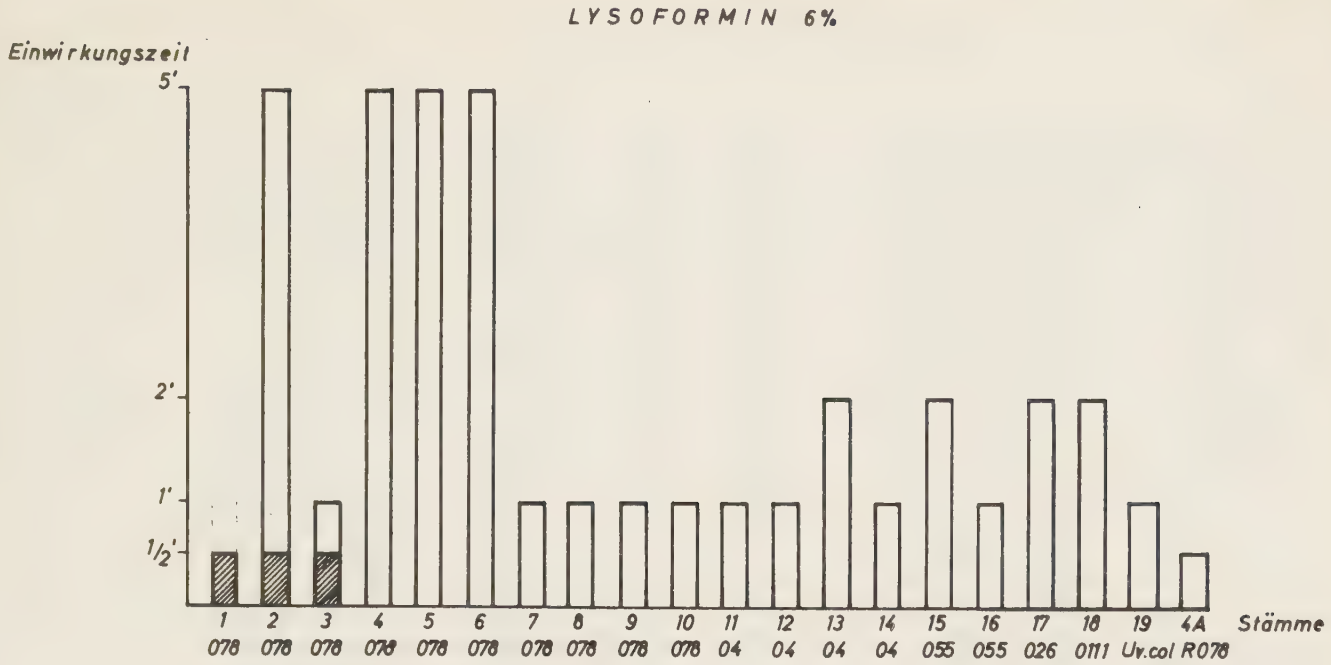
Wiederum erwiesen sich vier Stämme des E.coli O 78 als besonders resistenzfähig, denn sie überlebten die Einwirkungszeit von 5 Minuten. Nach 2 Minuten Einwirkungszeit wuchsen ein Stamm des Serotyps O 78 und je einer des Serotyps O 4, O 55, O 26 und O 111.

)+ Herrn Dr. Röschenthaler sei hiermit nochmals herzlich gedankt.

Für alle übrigen Stämme, die rauhe Form O 78 davon ausgenommen, wirkte das Lysoformin dieser Konzentration schon nach einer Minute bakterizid. Der rauhe Stamm überlebte nur eine Einwirkungszeit von 30 Sekunden.

Zum Vergleich testete ich auch drei Stämme (Tab.-Nr. 1-3) ohne Enthemmungsmittel. Wie die Abbildung Nr.3 veranschaulicht, ist das Wachstum bei den Keimen, deren Nährböden in der Subkultur das Histidinmonochlorid nicht enthielten, deutlich vermindert.

Es war auffallend, daß im Gegensatz zur Formalinlösung, Lysoformin endgültige Desinfektionsergebnisse bereits nach 24-stündiger Bebrütungsdauer zeitigte.



LYSOFORMIN 6 % ohne Histidinmonochlorid ▨

-"- 6 % mit -"- □

Abb. 3 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Lysoformin

Sagrotan

Wirkstofftyp: Alkylierte, arylierte, aralkylierte und halogenierte Phenole.

Die keimtötende Wirkung aller auf Phenolbasis aufgebauter Desinfektionsmittel läuft nach COOPER über zwei Aktionsstadien ab (4). Das erste Stadium bildet die Absorption des Phenols durch das Bakterium; in der folgenden Reaktion geht das Phenol nicht, wie man früher dachte, eine chemische Bindung mit den Zellproteinen ein, sondern zerstört das in Emulsionsform gelöste Kolloidsystem der Zelle, wobei eine Ausfällung der Zellproteine zu beobachten ist.

Die entwicklungshemmende Wirkung des Sagrotans hob ein Zusatz von 0,5 % Tween 80 zum Nährboden des Subkultur auf.

Ich verwendete bei diesen Versuchen das Sagrotan in den Konzentrationen von 2 %, 1 %, 0,5 % und 0,1 %.

Die 2 %ige, sowie die 1 %ige Lösung erwiesen sich für die Teststämme als stark wirkend. Bereits nach 30 Sekunden Einwirkungszeit waren lebende Keime nicht mehr nachweisbar.

Zu resistent wiederum erschienen die Testkeime gegenüber einer 0,1 %igen Verdünnung. Sämtliche Stämme besaßen nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten weiterhin Lebensfähigkeit. Eine Ausnahme bildete der rauhe Stamm O 78, der nur eine Einwirkungszeit von 1 Minute aushielt (vgl. Abb. 4).

Erst bei den Versuchen mit der 0,5 %igen Lösung kamen Resistenzunterschiede zutage. Im Durchschnitt reagierten die Vertreter des E.coli O 78 resistenter als die übrigen, zwei Stämme dieses E.coli und einer des Serotyps O 4 waren nach 1 Minute Einwirkungszeit noch lebensfähig.

30 Sekunden Einwirkungszeit überstanden sieben Stämme des Serotyps O 78 und vier Stämme des Serotyps O 4, die auf andere Mittel empfindlich reagierten. Bei den sieben restlichen Stämmen waren schon nach dieser kurzen Einwirkungszeit keine lebenden Keime mehr vorhanden.

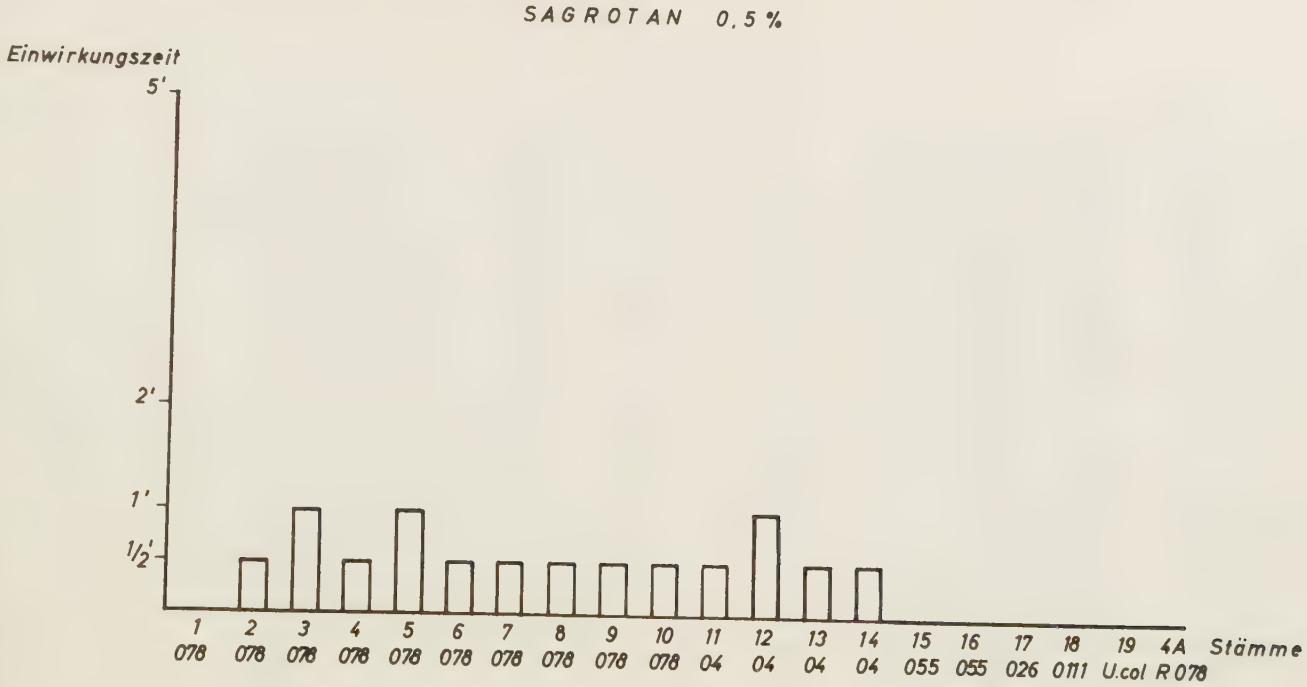


Abb. 4 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Sagrotan

Alkalysol

Wirkstofftyp: Kresol und alkalische Seifenlösung
(Oxytoluol $C_6H_4OH-CH_3$)

Die antibakterielle Wirkung des Phenolderivats, Kresol wird verstärkt durch Substituierung von Methylgruppen; der Verteilungskoeffizient vergrößert sich und bewirkt somit ein rascheres Eindringen in die Zellen (nach Kiese).

Um die entwicklungshemmende Wirkung des Alkalysols aufzuheben, wurde dem Nährboden der Subkultur ein Zusatz von 1 % Tween 80 beigemengt.

Die Versuche mit Alkalysol führte ich in den Konzentrationen von 0,1 %, 0,5 % und 1 % durch. Bei einer Verdünnung des Desinfektionsmittels 0,1 % und einer Einwirkungszeit von 5 Minuten verfügten alle Stämme noch über ungehemmtes Wachstum. Erst die Tests mit der 0,5 %- und 1 %igen Lösung brachten differenzierbare Ergebnisse. Wie Abbildung 5 verdeutlicht, zeigen sich bei einer Desinfektionsmittelkonzentration von 0,5 % sieben Stämme des Serotyps O 78 besonders resistenzfähig. Einer von ihnen überlebte sogar eine 5-minütige Einwirkungszeit. Zwei Vertreter des E.Coli O 4 und ein Stamm des E.coli O 26 bieten ein ähnliches Bild.

Auffallend ist der starke Resistenzverlust des rauhen Stammes O 78.

In 0,1 %iger Verdünnung des Alkalysols überstand ein Stamm des Serotyps O 78 zwei Minuten Einwirkungszeit. Zwei Vertreter des gleichen Serotyps vermochten noch nach einer Minute zu wachsen.

Je ein Stamm des E.coli O 78 und O 26 sowie zwei des E.coli O 4 überlebten die Einwirkungszeit von 30 Sekunden. Die elf restlichen Stämme zeigten bei dieser Konzentration überhaupt kein Wachstum.

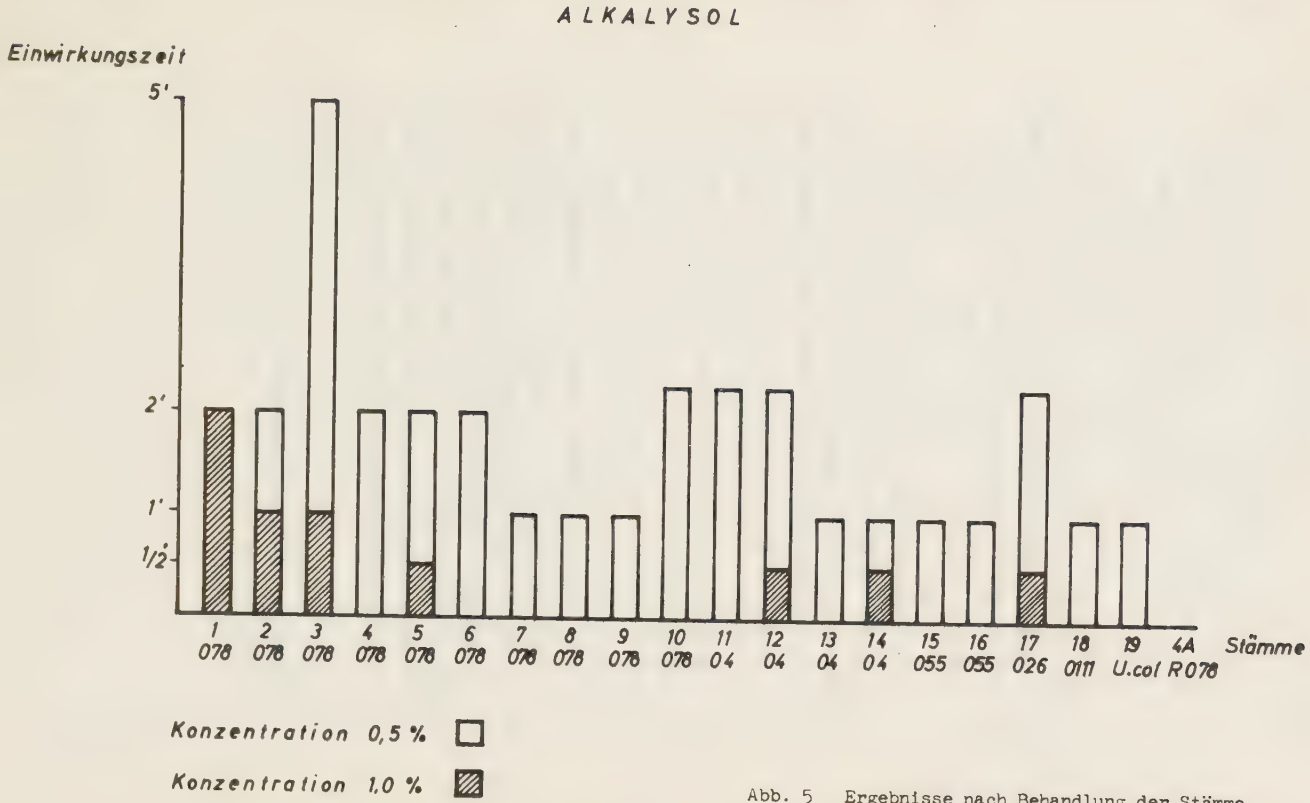


Abb. 5 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Alkalysol

Sublimat

Wirkstofftyp: Quecksilberchlorid ($Hg\ Cl_2$)

Die schon sehr früh erkannte bakterizide Wirkung des Sublimats gab im Laufe der Zeit Anlaß für allerlei Vermutungen über dessen Wirkungsmechanismus.

So wurde unter anderem die Lipoidlöslichkeit des $HgCl_2$, sowie die durch die feste Bindung des $HgCl_2$ an Eiweiß freiwerdende HCl für den Zelltod verantwortlich gemacht (11).

SELZER und BAUMBERGER (1942) fanden, daß Quecksilber hemmend auf die Respiration von Hefezellen wirkt und ihr Angriffspunkt wahrscheinlich im Enzymsystem zu suchen ist (26). Wie sie vermuten, wird die Respirationshemmung durch das fein verteilte Quecksilber verursacht, und zwar durch eine "Oxydation-Komplexformation" zwischen den SH-Gruppen des Enzymsystems der Hefezellen und des Hg.

BARRON und SINGER (1945) kamen bei Überlegungen über die Inaktivierung und Reaktivierung der -SH-Enzyme zu dem Schluß, daß die Succinoxidase durch das Hg ausgeschaltet und durch Thioglykolat vollständig reaktiviert wird, sofern man letzteres 10 oder 15 Minuten nach dem Hg hinzufügt. Dabei tritt eine 85 %ige Reaktivierung ein, wenn der Zusatz nach 30 Minuten und eine weniger als 70 %ige, wenn der Zusatz nach einer Stunde hinzugegeben wird.

Die bakterizide Nachwirkung des Sublimats in der Subkultur wurde deshalb in meinen Versuchen durch einen

Zusatz von 0,25 % Natrium-thioglykolat zur Nährbouillon ausgeschaltet.

Ich testete die Stämme mit einer 0,1 %-, 0,5 %-, 1 %- und 2 %igen Lösung.

Die Ergebnisse dieser Versuche waren überraschend, jedoch für diese Arbeit, d. h. zur Resistenzdifferenzierung der einzelnen Stämme, unbefriedigend. Sätliche oben angeführten Konzentrationen wirkten bei fast allen Stämmen sogar nach einer Einwirkungszeit von 5 Minuten weder bakterizid noch bakteriostatisch.

Eine Ausnahme machte der rauhe Stamm O 78, der in der 1 %igen Lösung eine Einwirkungszeit von 2 Minuten, in der 2 %igen Lösung die Einwirkungszeit von einer Minute überlebte.

Diese Ergebnisse bestätigten sich bei der Wiederholung der Versuche, wobei nicht nur außer dem handelsüblichen ein chemisch reines Präparat in den Versuch miteinbezogen wurde, sondern auch auf eine absolute Keimfreiheit der verwendeten Nährböden geachtet wurde.

Die ungewöhnliche Wirkungslosigkeit des Sublimats dürfte auf zwei Ursachen zurückzuführen sein: Erstens auf die schon oben angeführte, volständige Reaktivierung der -SH Enzyme durch das Natrium-thioglykolat und zweitens vielleicht auf eine Resistenzsteigerung der Testkeime.

Die Anwendung anorganischer und organischer Qecksilberverbindungen könnte unter Umständen diese Resistenzsteigerung erzielt haben.

H. KIRCHOFF vermochte tatsächlich beim Dyspepsie-Coli O 111, den er über 50 Passagen mit einer organischen Quecksilberverbindung behandelte, eine Resistenzsteigerung um das 7,5-fache feststellen (16). Das ist aber im Vergleich hinsichtlich der Resistenzsteigerung gegenüber Antibiotica ein bescheidener Faktor.

Quartamon

Wirkstofftyp: Quartäre Ammoniumverbindung

Diese Verbindung läßt sich vom Ammoniumchlorid NH_4CL ableiten, wenn man die einzelnen Wasserstoffatome durch organische Radikale ersetzt. Eines dieser Radikale stellt eine lange Kohlenstoffkette dar, die dieser chemischen Zusammensetzung den Charakter einer kation-aktiven Seife verleiht (11).

Den Forschungen MILLERS, BAKERS und HARRISONS (22) zufolge hemmen alle kationaktiven Grenzflächenentspanner schon in einer Konzentration von 0,033 % wirksam die Zellrespiration; und zwar in gleicher Weise bei den grampositiven und gramnegativen Bakterien (22).

Die bakterizide Nachwirkung des Quartamons verhinderte ein Zusatz von 3 % Tween 80 und 0,3 % Lecithin zum Nährboden in der Subkultur.

Ich testete die Stämme mit folgenden Desinfektionsmittel-Konzentrationen: 0,033 %, 0,1 %, 0,5 % und 2 %. Bei den Versuchen mit der 2 %igen Lösung ließ sich bereits nach 30 Sekunden Einwirkungszeit kein Wachstum mehr feststellen. Das gleiche Ergebnis, mit Ausnahme eines Stammes des Serotyps O 78, brachte der Test mit einer Konzentration von 0,5 %.

Sogar bei einer 0,1 %igen Verdünnung des Quartamons vermochten nur 3 Stämme zu wachsen. Es war auffallend, daß auch diese Stämme dem Serotyps O 78 angehörten. Dabei überstanden zwei 30 Sekunden und einer eine Minute Einwirkungszeit.

Noch unvermindert stark war die bakterizide Wirkung bei Verwendung der 0,033 %igen Lösung. Wiederum hielten lediglich zwei Vertreter des Serotyps O 78 der Einwirkungszeit einer Minute und zwei ihr 30 Sekunden lang stand.

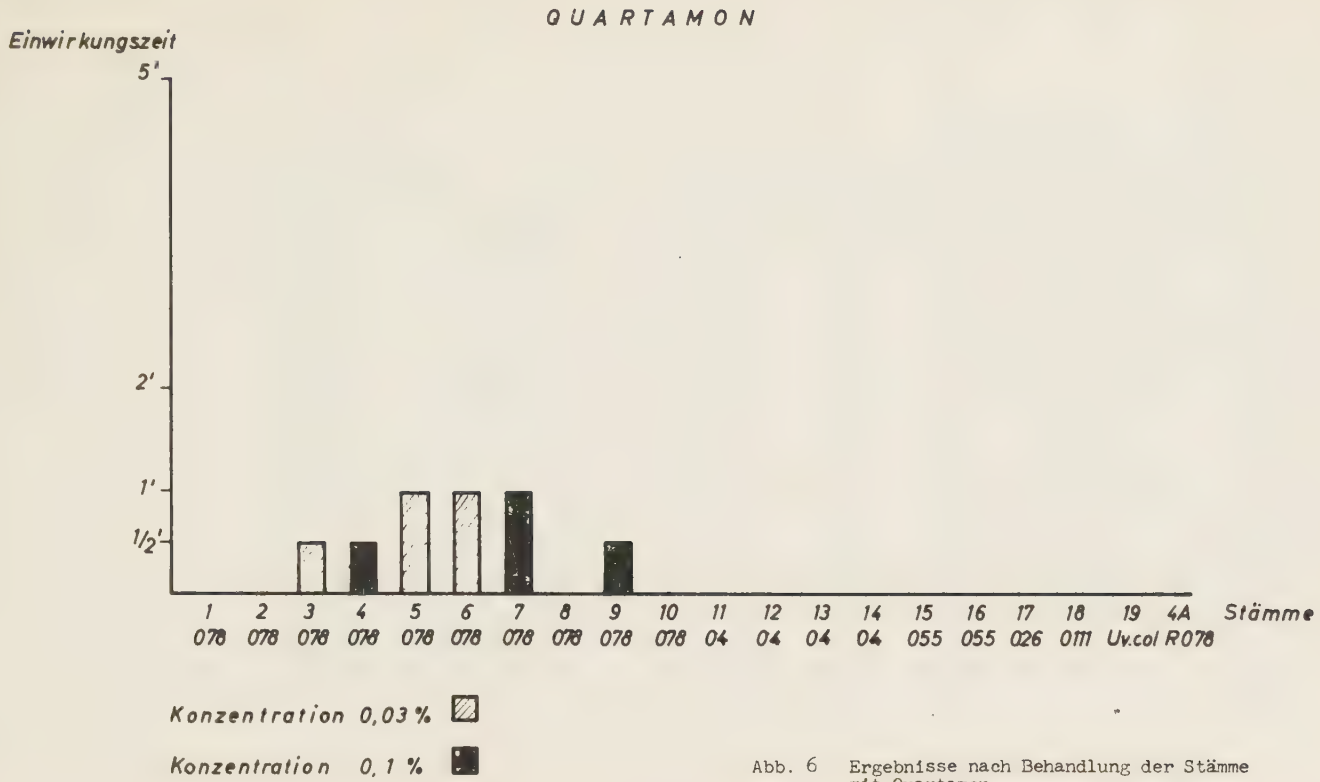


Abb. 6 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Quartamon

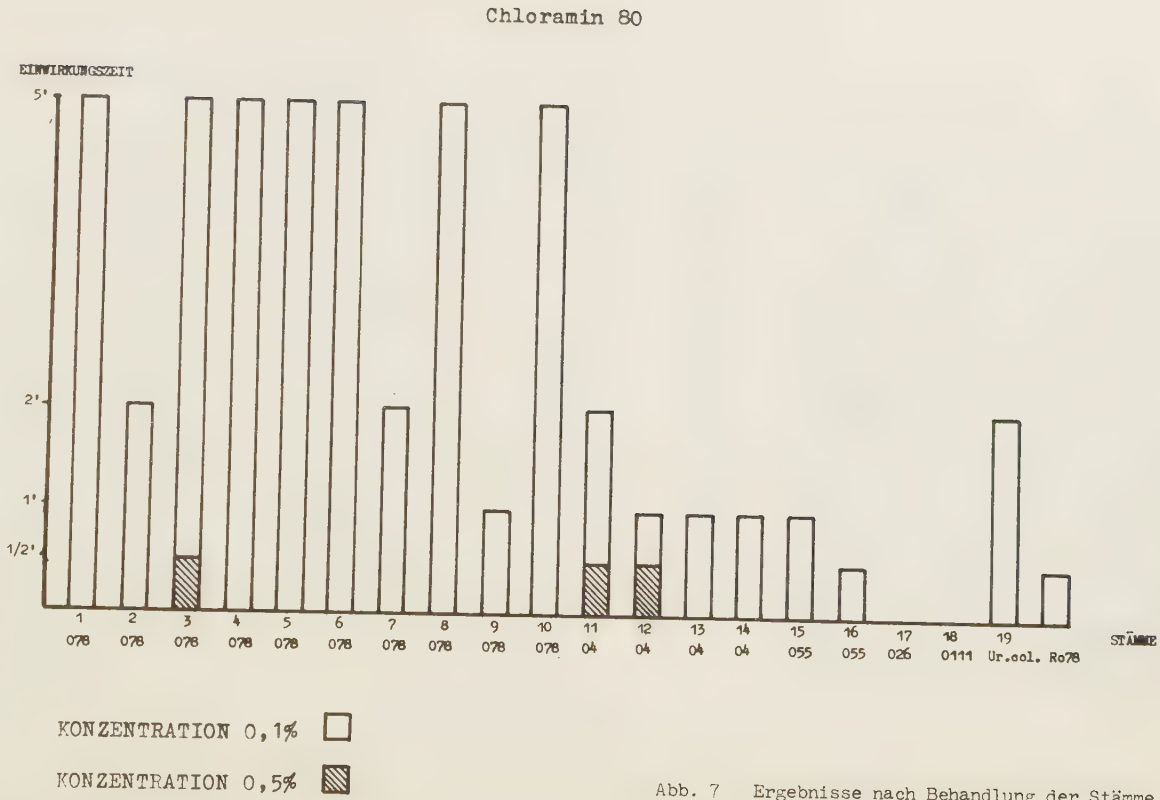


Abb. 7 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Chloramin 80

Tego 103 S

Wirkstoff: Ampho-Tensid (Dodecyl-diamino-äthyl-glycin-hydrochlorid)

Nach Vorschlag von GÖTTE werden Stoffe mit grenzflächenaktiver Wirkung, soweit sie sich zum Waschen und Reinigen eignen, als "Tenside" bezeichnet(5).

Den Vermutungen von KUHN und BIELIG (17) folgend, konnte HOTCHKISS an Staphylokokken, die vorher mit oberflächenaktiven Stoffen, inklusive den Dodecylaminen behandelt wurden, eine Durchlässigkeit von nitrogen- und phosphorenthaltenden Verbindungen nachweisen (14). EGGENBERGER (7) und SALTON (24) stellten zudem ein Ansteigen der Durchlässigkeit für Elektrolyte aus der Bakterienzelle nach Behandlung der Keime mit Dodecyl-ammonium-chlorid und anderen grenzflächenaktiven Stoffen fest.

Als Enthemmungsmittel wurde auch hier dem Nährboden der Subkultur 0,5 % Tween 80 hinzugegeben.

Bei meinem Test mit Tego 103 S setzte ich die Stämme einer Konzentration von 2 %, 1 %, 0,5 % und 0,1 % aus.

Die Versuche mit der 1 %- und 2 %igen Lösung brachten keine differenzierbaren Ergebnisse. Nicht einer der Stämme überlebte eine Einwirkungszeit des Desinfektionsmittel von 30 Sekunden.

Ebenfalls noch sehr bakterizid wirkte die 0,5 %ige Kon-

zentration. Nur zwei Stämme des Serotyps O 78 und jeweils einer des Serotyps O 4 und O 26 waren sogar nach einer Einwirkungszeit von 30 Sekunden lebensfähig.

Erst die Versuche mit einer Verdünnung des Tego 103 S von 0.1 % ergaben größere Resistenzunterschiede (vgl. Abb.8). Zu den Widerstandsfähigsten zählten wieder zwei Stämme des Serotyps O 78, die selbst nach 5-minutiger Einwirkungszeit noch wuchsen. Ein Stamm des E.coli O 4 überlebte eine 2-minutige Einwirkungszeit.

Während zwei O 78-Stämme und der normale Urin-Coli nach einer Einwirkungszeit von 1 Minute voll lebensfähig waren, überstanden vier Vertreter des E. coli O 78, zwei des E.coli O 4 und einer des E-coli O 26 nur die Einwirkungszeit von 30 Sekunden. Auf die sechs übrigen Stämme (2 x O 78, 1 x O 4, 1 x O 55, 1 x O 111,O 78 rauh) wirkte diese Konzentration schon bakterizid. Bemerkenswert ist auch hier der Resistenzverlust der rauhen Form O 78.

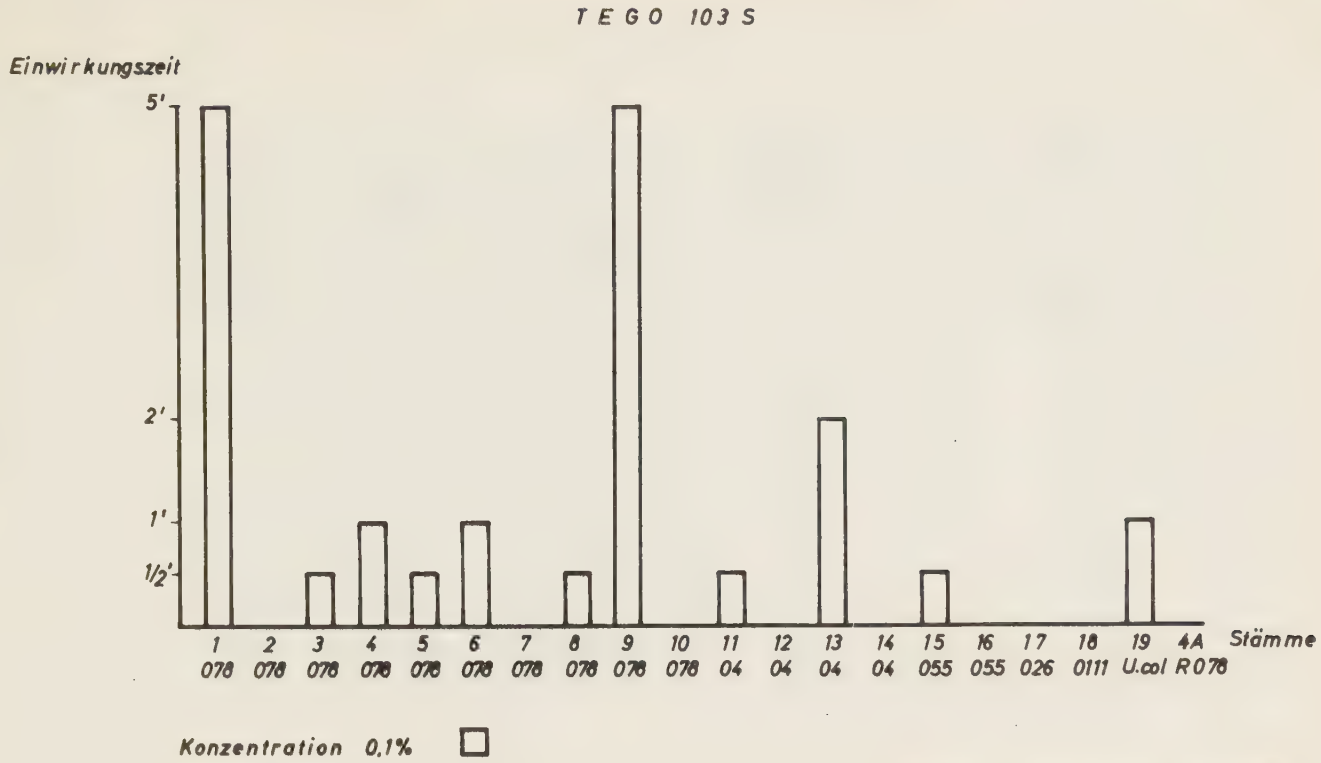


Abb. 8 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Tego 103 S

Incidin

Wirkstoffkombination auf der Basis von Organozinnverbindungen. Formaldehyd und Formaldehydderivaten

Den Wirkungsmechanismus dieser Stoffe beschrieb ich bereits bei den Versuchen mit Formaldehyd und dem in seiner Wirkungsweise der Organozinnverbindung gleichenden Sublimat.

Die bakterizide Nachwirkung des Incidins in der Subkultur wurde durch einen Zusatz von 0,25 % Thioglykolat und 0,5 % Histidin zur Nährbouillon aufgehoben.

Die Stämme testete ich mit einer 1 %- und 6 %igen Incidin-Lösung. In diesen Konzentrationen zeigte das Desinfektionsmittel überraschend hohe Resistenzunterschiede der jeweiligen Keimarten.

Bei den Versuchen mit der 1 %igen Lösung ließ sich die Widerstandskraft der Stämme, die alle eine Einwirkungszeit von 5 Minuten überlebten, an ihrem verzögerten Wachstum erkennen; ausgenommen war die rauhe Form O 78 mit einer Einwirkungszeit von 2 Minuten (vgl. Abb. 9). Drei Vertreter des Serotyps O 78 und zwei des Serotyps O 4 ließen trotz der 5 Minuten langen Einwirkungszeit des Incidins bereits nach 24-stündiger Bebrütungszeit eine Trübung des Nährbodens erkennen. In der selben Bebrütungszeit bei einer Einwirkungsdauer von 2 Minuten wuchsen sechs Stämme des Serotyps O 78 und der Urin-Coli; die übrigen Vertreter des Serotyps O 78, zwei des Serotyps O 4 und einer des Serotyps O 26 bo-

ten das gleiche Bild nach einer Minute Incidin-Einwirkung.

Jeweils ein Stamm des E.coli O 55, O 26 und die rauhe Form O 78 waren ausgesprochen resistenzschwach und mußten selbst nach 30 Sekunden Einwirkungszeit 48 bzw. 72 Stunden lang bebrütet werden, um eine Trübung der Subkultur zu verursachen.

Bemerkenswerterweise brachten Versuche mit der 6 %igen Lösung einen starken Resistenzabfall der Vertreter des Serotyps O 78 zu den anderen Testkeimen (vgl. Abb. 9). Während fünf Stämme dieses Serotyps nicht einmal eine Einwirkungszeit von 30 Sekunden überlebten, zeigten 3 Stämme nach 30 Sekunden und jeweils ein Stamm nach 1- bzw. 2-minütiger Einwirkungszeit nur noch verzögertes Wachstum.

Im Gegensatz zu den ober erwähnten Serotypen konnte man die endgültigen Ergebnisse der übrigen Stämme bereits nach 24-stündiger Bebrütungszeit ablesen. Zwei Vertreter des Serotyps O 4 und der normale Urin-Coli lebten noch nach 2 Minuten Einwirkungszeit. Je ein Stamm des E.coli O 4, O 111 und die rauhe Form O 78 überstanden die Einwirkungszeit einer Minute.

Einer nur aus 30 Sekunden bestehenden Einwirkungsdauer hielt lediglich der Stamm O 26 stand; die beiden restlichen Stämme (1 x O 4 und 1 x O 55) waren selbst nach dieser kurzen Zeit abgetötet.

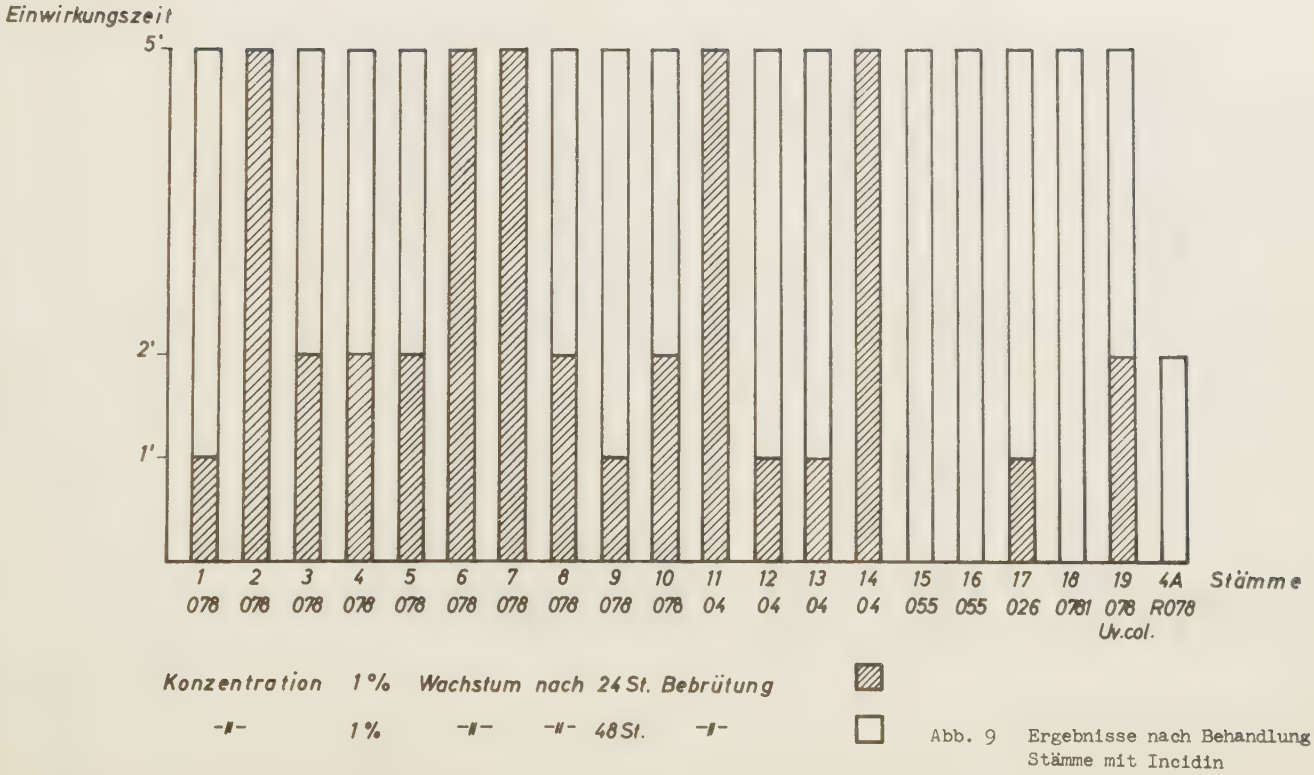


Abb. 9 Ergebnisse nach Behandlung der Stämme mit Incidin

Auswertung der Untersuchungen

Wie die vorangegangenen Versuche zeigten, konnte ich durchaus Resistenzunterschiede der einzelnen Dyspepsiecoli-Stämme gegenüber den verschiedenen Desinfektionsmitteln feststellen. Diese Resistenzdifferenz ergab jedoch bei den Versuchen, abhängig vom verwendeten Desinfektionsmittel, jedesmal ein anderes Bild.

Eine gewisse Ähnlichkeit im Resistenzbild konnte ich bei den Tests mit den Mitteln Formalin, Lysoformin und Incidin feststellen. Dieses Ergebnis läßt sich wohl auf den gleichen Wirkungsmechanismus jener drei Stoffe zurückführen. Der Organozinn-Zusatz des Incidins dürfte durch die Verwendung von Natriumthioglykolat, dem Enthemmer in der Subkultur, aufgehoben sein.

Ein bei einzelnen Stämmen nur andeutungsweise ähnliches Verhalten beobachtete ich bei der Auswertung der Resistenztabellen von Alkalysol und Sagrotan. Auch hier dürfte für diese Erscheinung die gleiche Wirkungsweise der Phenolderivate ausschlaggebend sein.

Die Wachstumsverhältnisse der Versuchskeime bei der Anwendung von Chloramin 80 lassen sich zwischen die beiden letzten Gruppen einordnen.

Die Versuchsergebnisse mit den Mitteln Tego 103 S und Quartamon stehen mit den oben angeführten Resistenzbildern in keiner Beziehung.

Auffallend ist, daß sich diese Feststellungen nahezu ausschließlich auf die Vertreter des Serotyps O 78, in seltenen Fällen auf die anderen serologischen Typen stützen.

Die Erklärung dafür dürfte nicht nur darin liegen, daß die Hälfte der getesteten Stämme vom serologischen Typ O 78 waren, sondern in der ganz auffälligen, größeren Durchschnittsresistenz dieser Bakterien den anderen gegenüber.

Was jenen Unterschied betrifft, so läßt er sich gut aus den Resistenztabellen der Mittel Formalin, Lysoformin und ganz besonders aus denen des Chloramin 80 und Quartamon ablesen.

Von den restlichen zehn Stämmen zeichnet sich der Serotyp O 4 durch eine etwas erhöhte Resistenz aus. Eine Ausnahme bildet der Test mit Lysoformin, bei dem die serologischen Typen O 55, O 26, O 111 und der normale Urin-Coli dasselbe oder zum Teil ein erhöhtes Resistenzbild zeigen.

Besonders empfindlich reagierten die Stämme des Serotyps O 55 (Nr.16), O 26 und O 111.

Auffällig schien mir der sehr starke Verlust der Widerstandsfestigkeit des rauhen Stammes O 78 (Nr. 4a) gegenüber dem glatten Ausgangsstamm (Nr. 4).

Dieser Stamm wuchs nach seiner Umwandlung nicht wie früher mit diffuser Trübung des flüssigen Nährbodens, sondern bildete lediglich eine dicke Keimschicht am Boden der Bouillon. Statt eines glatten, schleimigen Kulturrasens bot der rauhe Stamm O 78 nun in seinem morphologischen Bild eine rauhe, trockene Oberfläche und zeigte, was nicht immer die Regel ist, eine veränderte serologische Reaktion. Mit den OK-Seren der BEHRING-Werke und Seren von Professor Dr. LINZENMEIER konnte er nicht mehr agglutiniert werden.

Der Verlust des O-Antigens während der Umstellung von der Rauh- (R) zur Glattform (S) dürfte auf einen Lagewechsel des O-Antigens in der Hüllenstruktur des Bakteriums zurückzuführen sein (18).

Die Funktionszusammenhänge zwischen R- und S-Antigen im Laufe der Mutation eines Keimes sind noch ungeklärt (18).

Offensichtlich steigerte jedoch die Strukturänderung der Zellmembran wesentlich die Empfindlichkeit gegen Desinfektionsmittel.

Besprechung

Bei der Auswertung des Antibiotica- und Desinfektionsmittel-Resistenzbildes konnte ich keine festen Beziehungen zwischen beiden erkennen. Es zeigte sich, daß eine hohe Desinfektionsmittelempfindlichkeit keineswegs mit einer entsprechenden Empfindlichkeit gegen Antibiotica und Sulfonamiden zusammentreffen muß.

Geradezu auffallend waren die entgegengesetzten Reaktionen einzelner Stämme. Vier gegen Desinfektionsmittel widerstandsfähige Formen des Serotyps O 78 (Tab.-Nr. 1-4) sprachen auf Sulfonamide und Antibiotica, mit Ausnahme der Tetracycline, voll an.

Ein praktisch umgekehrtes Bild bot der Stamm O 111 mit seiner, im Vergleich zu den anderen Teststämmen, größten Desinfektionsmittelempfindlichkeit und seiner gleichzeitig stärksten Antibiotica- und Sulfonamid-Resistenz. Bei keinem anderen getesteten Coli-Stamm vermochte ich diese ausgeprägte Resistenz gegen Chemotherapeutica, das Furoxon und Polymyxin davon ausgenommen, zu entdecken.

Für jenes so eigenartige Verhalten der einzelnen Stämme konnte ich keine Erklärung finden zumal in der Literatur Reaktionen dieser Art bisher nicht zur Sprache gekommen sind. - Es wäre jedoch durchaus denkbar, daß die durch Mutation oder Selektion resistenter Keime erlangte Antibiotica-Resistenz der Bakterien mit einer erhöhten Empfindlichkeit gegen Umwelteinflüsse verschiedenster Herkunft verbunden ist.

So beschrieb bereits M. WELSCH im Jahre 1949 (2) Experimente, bei denen er Mischkulturen mit streptomycinresistenten und strptomycinempfindlichen Staphylokokken anlegte. Schon nach wenigen Subkulturen beherrschte der streptomycinempfindliche Stamm vollkommen das Bild.Doch auch WELSCH fand für das langsamere Wachsen der streptomycinresistenten Keime keine Erklärung.

Diese Entdeckungen von WELSCH bestätigten später LINZ und LECOCQ (1951) durch Versuche mit anderen Bakterienarten. "In vivo"-Experimente an Meerschweinchen, die man mit Tuberkelbakterien infiziert hatte, verstärkten noch jene Ergebnisse.

BANIC (1958), der unter anderem auch Colibakterien solchen Tests unterzogen hatte, regte an, Mischkulturen mit Stämmen ausgedehnterer Antibiotica-Resistenzbreite zu untersuchen. Also beispielsweise das biologische Verhalten streptomycinresistenter Keime zu Keimen, die sowohl streptomycin- wie penicillinresistent sind.

Zum Nachweis, ob die Antibioticaempfindlichkeit nun tatsächlich im umgekehrten Verhältnis zu jener des Desinfektionsmittels steht, wären noch umfangreiche Versuche notwendig. Man müßte zu diesem Zweck antibioticaempfindliche Formen in resistente verwandeln und ihr Verhalten gegen chemische und physikalische Einflüsse vor und nach ihrer Resistenzänderung beobachten.

Sollten sich in der Folgezeit die von mir gemachten Feststellungen bestätigen, so ließe dieses Einspie-

len auf das "biologische Gleichgewicht" (in WELSCHs Nomenklatur ausgedrückt) hoffen daß die Chemotherapeutica letzten Endes ihrer großen Wirksamkeit doch nicht verlustig gehen.

Für die Praxis wiederum bedeutet es, daß gerade Infektionen mit antibioticaresistenten Stämmen viel leichter mit einem wirksamen Desinfektionsmittel bekämpft werden können. Eine Möglichkeit, von der man in unseren Krankenhäusern gegen den so gefürchteten Hospitalismus mehr Gebrauch machen sollte.

Zusammenfassung

Es wurden insgesamt 19 Dyspepsie-Colistämme und ein normaler Colistamm in ihrem Verhalten gegen Antibiotika und verschiedener im Handel befindlicher Desinfektionsmittel und Chemikalien geprüft.

Es stellte sich heraus, daß die Ergebnisse, die mit der Prüfung e i n e s Dyspepsie-Colistammes gewonnen wurden, oft keine Gültigkeit für die übrigen Vertreter des gleichen oder eines anderen Serotyps besitzen. Dies war besonders gut an den verschiedenen Typen von E.coli O 78 zu beobachten.

Die einzelnen Stämme reagierten shr unterschiedlich auf die Einwirkung der Desinfektionsmittel. Die Größe dieser Differenz ist jeweils vom Wirkungsmechanismus eines Präparates abhängig. Das bedeutet, daß verschiedene Desinfektionsmittel bei serologisch differenzierbaren Typen einer Species einen großen Unterschied in ihrer bakteriziden Wirkung aufweisen. In der Praxis wäre ein solches Mittel für die Desinfektion dieser Erreger nur bedingt anwendbar.

Das gleiche gilt für die Mittel, die in den gebräuchlichen Konzentrationen nur sehr langsam wirken. Dieses Verhalten zeigten besonders die Präparate auf der Basis von Formaldehyd-Verbindungen. Desinfektionsmittel dieser Art sollten als Grobdesinfizienz auf Entbindungs- und Säuglingsstationen zur Scheuerdesinfektion nicht verwendet werden

Die guten Ergebnisse derPhenolderivate, quartären Ammoniumverbindungen und Tenside lassen, da sie "in vitro" gewonnen wurden, gewisse Rückschlüsse auf ihre praktische Bedeutung zu.

Schon 50 %iger Äthyl- und Propylalkohol erzielt eine sichere Abtötung der Dyspepsie-Colikeime.

Auffällig war, daß verschiedene Keime, die gegen die meisten der verwendeten Antibiotika resistent waren, besonders gut auf Desinfektionsmittel ansprachen.

Vorschläge für weitere Versuchsanordnungen zur Festigung dieser Beobachtungen, Ursachen dieser Reaktion und ihre Bedeutung für die Praxis wurden diskutiert.

Literaturverzeichnis

1. ADAM A. — Säuglings - Enteritis, Stuttgart 1956

2. BANIC S. — The Mechanism of the "Welsh Phenomenon" J. Hyg. (Camb.) 56, 37-42 (1958)

3. BARRON E. T. P. SINGER — Studies on biological Oxidations. J. Biol. Chem., 157, 221-240 (1945)

4. COOPER J. — Biochem. J. 1913, 13, 175

5. DAMM H. — Wissenschaftliche Grundlagen der Desinfektion, Schweiz. Milchz. Schaffhausen, Nr. (Wissenschaftliche Beilage Nr. 69, 1960)

6. DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE — Richtlinien für die Prüfung chem. Desinfektionsmittel (1958)

7. EGGENBERGER H. MC CLOY NOEL A. HARWOOD — Ann. N. Y. Acad. Sci., 1950, 53, 105

8. FEY H. — Bakteriologie und Serologie der Colisepsis des Kalbes Zbl. f. Vet. Med. IV, 309-318 (1957)

9. FEY H. — Bakteriologie und Serologie der Colisepsis des Kalbes. Die Bedeutung des Colityps O 78 : 8Q R für die Kälberruhr, Zbl. f. Vet. med. IV, 447-458 (1957)

10. FLEISCHHAUER G. — Über den Wert von Desinfektionsmittel bei Dyspepsiecolierkrankungen, Med. Klin. 50, 740, (1955)

11. GÄRTNER A. — Weyls Handbuch der Hygiene, Bd. VII, 625 Leipzig (1902)

12. GESUNDHEITSWESEN UND DESINFEKTION — II. Liste der nach den "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" geprüften und von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie als wirksam befundenen Desinfektionsmittel, 6/1961

13. HEICKEN K. G. SPICHER — Über die Kinetik der Inaktivierung und Reaktivierung von Phagen, III. Theoretische Analyse des Inaktevierungsvorgangs von Phagen durch Formaldehyd, Zschr. Naturforsch. Tübingen 14, 318-323 (1959)

14. HOTCHKISS E. — Advanc. Enzymol. 1944, 4, 153

15. HUGO W. — The Mode of Action of Antiseptics Journ. of Pharmacy and Pharmacologie 1957, 145-161

16. KIRCHHOFF H. — Untersuchungen über die Resistenzstei rung von Bakterien gegen Desinfektion mittel, Arch. f. Hyg. u. Bakt. 146, (1962) 553

17. KUHN R., BIELIG — Ber. dtsch. chem. Ges., 1940, 73, 108

18. KRÖGER E. — Die Variationen S/R und O/o insbesond bei gramnegativen Darmbakterien, Erge der Hygiene, Bakteriologie, Immunität schung und experimentellen Therapie, Springer 1955, 205

19. LINZENMEIER G., METZ H. — E. coli O 78 : 80 B, einer der Erregeı Kälberruhr, als Ursache der Säuglings pepsie, Med. Klin. 55, 1151-1152, 196

20. LINZENMEIER G. — Zur Bewertung einer vereinfachten Hem methode, Zbl. Bakt. I 0167; 327-329,

21. MILES A., N. W. PIRIE — The Nature of the bacterial Surface Oxford, Blackwell Scientific Publ. 19

22. MILLER, BAKER, HARRISON — Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 1939, 42

23. REDDISH G. — Antiseptics, Desinfectants, Fungicide and Chemical and Physical Sterilisati London 1957, 287-288

24. SALTON — Aust. J. Sci. Res., 1950, B 3, 45

25. SCHMIDT E. F., H. W. OCKLITZ — Die Desinfektion in der Säuglingskli im Hinblick auf die Dyspepsiecoli-Übe tragung, Dtsch. Gsdh. Wes. X, 2, 57-6

26. SELZER L., J. BAUMBERGER — The Influence of Metallic Mercury on Respiration of Cells. J. Cellular Co Physiol., 19, 281-287 (1942)

27. WEIDEL W. — Über die Zellmembran von E-coli B, Z Naturforsch. 6 b 251 (1951)

Lebenslauf

Am 14. 4. 1937 wurde ich als Sohn des Studienrates Alexander Kuzmany und seiner Ehefrau Dr. Annemarie Kuzmany in Czernowitz (Rumänien) geboren.

Im Winter 1939/40 wurden wir aus dem damals von den Russen besetzten Gebiet nach Wien umgesiedelt. Hier besuchte ich die Volksschule bis zur Flucht nach Bayern im April 1944.

In Burghausen/Oberbayern beendete ich die Volksschule und trat in das Humanistische Gymnasium über.

1954 zog ich mit meinen Eltern nach München. Am Wilhelmsgymnasium in München machte ich 1958 mein Abitur und begann im Wintersemester 1958/59 das Studium der Medizin.

Während meiner ganzen Studienzeit war ich in München und bestand das medizinische Staatsexamen im Frühjahr 1964.

Ergebenst danke ich Herrn Professor Dr. Dr. H. EYER, Direktor des Max - vov - Pettenkoferinstituts für Hygiene und med. Mikrobiologie der Universität München, für die Möglichkeit, die Arbeit an seinem Institut durchzuführen.

Herrn Professor Dr. G. LINZENMEIER danke ich besonders für die Überlassung des Themas sowie für die wertvollen Ratschläge und Anregungen zur Arbeit.